

文章编号 1006-8147(2023)06-0673-04

综述

间充质干细胞来源的外泌体治疗哮喘的研究进展

索睿,郝天旭,茹仙古丽·吾买尔 综述,赵晓赞 审校

(天津医科大学胸科临床学院,天津 300222)

摘要 哮喘是由多种细胞(如嗜酸性粒细胞、肥大细胞、T细胞、中性粒细胞、气道上皮细胞等)和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病,长期慢性气道炎症导致气道高反应性、可逆性气流受限及气道重塑。间充质干细胞(MSCs)对改善哮喘小鼠的气道重塑有较好的疗效,其释放的外泌体可能在治疗过程中发挥重要的作用。外泌体是细胞间通讯的重要载体,在细胞间转运具有生物活性的脂质、核酸及蛋白质等,从而改变靶细胞的生物学功能。MSCs来源的外泌体具有抗炎、免疫调节及促进组织修复和再生等作用,是哮喘治疗的新靶点。

关键词 哮喘;间充质干细胞;外泌体;气道重塑

中图分类号 R562.2+5

文献标志码 A

哮喘是一种以慢性气道炎症和气流高反应性为特征的异质性疾病,气道重塑在哮喘疾病进展中扮演着重要角色,主要以支气管平滑肌肥大/增生、气道上皮细胞黏液化生、上皮下胶原沉积和纤维化、血管增生以及基底膜增厚为特征。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)在改善哮喘气道重塑中的疗效已经得到证实,其分化替代功能一直被认为是参与损伤组织修复的主要方式,但近年来研究发现 MSCs 旁分泌释放的外泌体(exosome, EXO)同样发挥了治疗作用。MSCs 来源的外泌体(MSCs-EXO)是细胞间通讯的媒介,可传递生物活性脂质、核酸和蛋白质,虽然已被证实具有抗炎、免疫调节及促进组织修复和再生等作用,但目前在疗效上仍存在争议,未广泛应用于临床。本文对 MSCs-EXO 改善哮喘气道重塑的研究进展进行了综述,为后续研究提供参考。

1 哮喘概述

哮喘是一种常见的慢性呼吸系统疾病,以气道高反应性(AHR)、气道炎症和气流重塑为特征^[1]。气道重塑通过基底膜增厚、细胞外基质沉积、气道平滑肌细胞异常生长等多方面过程参与哮喘进展^[2-3]。哮喘的临床特征主要表现为反复发作性喘息、呼吸困难、胸闷或咳嗽(咳嗽变异性患者可无喘息),常表现为可变性呼气气流受限。哮喘在世界范围内发病率越来越高,全球有3亿哮喘患者,近年来由于人口和环境问题等原因,情况有所恶化^[4]。目前哮喘

的治疗主要以吸入糖皮质激素和扩张支气管等对症处理为主,但仍有至少15.5%的哮喘患者发作时需急诊就诊,7.2%的患者需要住院进一步治疗^[5]。吸入糖皮质激素能有效控制大多数嗜酸性粒细胞型哮喘患者的症状,但中性粒细胞型类固醇抵抗性哮喘仍然是目前哮喘治疗的重大挑战。探索新的有效治疗方法来“根治”哮喘,更好地管理糖皮质激素反应不良或无反应哮喘患者是当务之急。

2 MSCs 在哮喘治疗中的应用

2.1 MSCs 概述 MSCs 又被称为多功能间质细胞,可来源于脂肪、骨髓、脐带血、羊水、牙髓等多种组织,早在1990年就被研究人员认识并逐渐被熟知。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)、脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UCB-MSCs)和脂肪组织间充质干细胞(adipose tissue mesenchymal stem cells, AD-MSCs)是 MSCs 的主要来源^[6]。尽管不同组织来源的 MSCs 在表型和功能特性上有所不同,但根据国际细胞治疗学会定义的最低标准:MSCs 表达 CD29、CD90、CD73、CD105、CD71、CD271, 而不表达 CD14、CD34、CD45 和人白细胞抗原 DR (human leukocyte antigen DR, HLA-DR); 具有黏附性; 并具有分化成脂肪细胞、成骨细胞等中胚层细胞系的能力^[7]。MSCs 不仅具有组织修复能力、免疫抑制特性,并且可以释放许多生物因子,故在过敏性疾病中发挥关键作用^[8]。MSCs 还具有低免疫原性^[9]。由于 MSCs 上主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) II 类分子、Fas 配体(Fas L)和 T 细胞共刺激分子低水平表达,故其更容易逃避免疫系统的攻击^[10-11]。因此,异种异体 MSCs 的应用成为可能。

基金项目 天津市医学重点学科(专科)建设项目(TKYXZDXK-049A);天津市卫生健康科技项目(KJ20015);天津市津南区科技计划项目(20200116)

作者简介 索睿(1998-),女,硕士在读,研究方向:呼吸系统疾病;通信作者:赵晓赞, E-mail: zxydoctor@163.com。

2.2 MSCs在哮喘治疗中的作用 近年来,有关MSCs改善哮喘气道重塑和延缓哮喘病情进展的报道逐渐增多。MSCs具有良好的组织修复、炎症抑制和免疫调节功能。Knight等^[12]研究表明, MSCs可直接分化为气道上皮细胞,发挥正常气道上皮细胞的功能,以改善哮喘引起的呼吸道损伤。Li等^[13]认为在卵清蛋白(ovalbumin, OVA)致敏大鼠尾静脉中植入胎盘源性间质干细胞,可以促进叉头盒蛋白P3(fork-head box P3, Foxp3)和白细胞介素(IL)-10的产生来增加调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)的数量,同时抑制RAR相关孤儿受体 γ (RAR-related orphan receptor γ , ROR γ t)和IL-17的产生以减少辅助性T细胞(Th)17的数量,从而改善哮喘的炎症。有研究将胎盘MSCs经尾静脉注入小鼠体内,结果显示支气管肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞减少, Th2细胞因子IL-4水平降低,其下游B细胞分泌IgE受到抑制。随着这些变化,杯状细胞的增殖和黏液的合成接近正常水平,淋巴细胞向Th2的极化被中断^[14]。虽然MSCs疗法可以有效抑制气道炎症、改善哮喘小鼠的肺功能、修复重塑的气道,但该法仍存在一定的局限性:若体外扩增和培养条件不当,仍可引起全身炎症反应,甚至可激活补体途径,诱导血栓形成;MSCs的长期体外培养会导致其干性下降,增殖分化能力下降,甚至寿命缩短;另外,有研究显示MSCs移植后,小鼠形成肉瘤的风险可能增加^[15]。因此,携带生物活性成分的EXO受到广泛的关注,有望成为MSCs的替代疗法。

3 MSCs-EXO在哮喘治疗中的应用

3.1 MSCs-EXO概述 EXO是由多泡体与细胞膜融合而释放的细胞外囊泡,直径约30~150 nm,作为细胞间通信的媒介,通过转运核酸(miRNA、mRNA、DNA)、蛋白质、酶和代谢产物,从而改变靶细胞的生物学功能,在过敏性气道疾病进程中发挥关键作用^[16]。EXO也是MSCs分泌途径的重要组成部分,可发挥与其母体相似的治疗效果,通过携带重要的细胞因子,调节免疫应答和细胞生物学功能^[17]。BM-MSCs是制备EXO的最常用细胞来源,但近几年有研究表明,诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)衍生的MSCs在表型和功能上与成人MSCs相似^[18],并表现出更高的增殖潜力、更长的生存时间、更强的免疫特性和更低的异质性^[19],这使它们成为大规模制备EXO的理想细胞来源。与基于MSCs的细胞治疗相比, MSCs-EXO的无细胞治疗具有免疫原性低、储存方便、生物安全性高等优点。且因为它们不能自主复制,故不会有肿瘤形成的风

险;它们也可以通过过滤灭菌,比细胞本身具有更长的保质期;此外,长期重复给药EXO不会引起毒性^[20]。到目前为止,已有两项临床研究报道MSCs-EXO用于治疗GVHD和慢性肾病(CKD)患者,且无严重不良反应^[21-22]。因此, MSCs-EXO被认为是非常有希望的无细胞治疗药物,潜在地发挥整个细胞的功能的同时,又克服了许多伴随活细胞治疗的常见问题,为哮喘及其他呼吸道疾病的诊断和治疗提供了新的契机。

3.2 MSCs-EXO在哮喘治疗中的作用 目前,多数MSCs-EXO在哮喘治疗及改善气道重塑中的应用尚处于实验研究阶段。MSCs-EXO在哮喘小鼠模型中通过减少气道中嗜酸性粒细胞、胶原纤维、肺组织中TGF- β 的产生和胸腺中CD3⁺CD4⁺T细胞的数量,具有减轻肺炎症反应和逆转损伤组织重构的能力^[23],并可以促进Tregs细胞的增殖,增强免疫抑制能力^[24]。EXO具有免疫调节的作用,可影响多种免疫细胞的表达。Fang等^[25]发现给哮喘小鼠全身静脉输注iPSCs衍生的EXO后,在抑制炎症细胞浸润、气道高反应性、黏液分泌、下调Th2细胞因子和2组固有淋巴样细胞(group 2 innate lymphoid cells, ILC2s)功能方面具有显著作用,更具体地说,EXO中包装的miR146a-5p已被发现介导上述作用,使ILC2s为主的过敏性气道损伤恢复活力。Ren等^[26]研究发现,多次较单次、鼻内较静脉更能提高肺间质巨噬细胞组成性表达IL-10,对OVA诱导的哮喘小鼠具有重要的保护作用,这为过敏性哮喘提供了一种新的预防策略。

4 MSCs-EXO治疗哮喘的机制

4.1 重塑巨噬细胞极化抑制炎症反应 巨噬细胞是肺组织中最丰富的免疫细胞(约占所有免疫细胞的70%),在调节气道炎症和气道重塑中发挥重要作用。根据特异性细胞因子和表面标志物^[27]的表达,巨噬细胞可分为经典活化型(M1)和选择性活化型(M2)。M1巨噬细胞可以分泌大量的炎症介质[包括肿瘤坏死因子(TNF)- α 、IL-1 β 、IL-6、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)]^[28]。这些炎症因子与中性粒细胞浸润、气道高反应性(AHR)和气道重塑^[29]有关。M2巨噬细胞[M2的生物标志物包括arginase-1(Arg-1)、CD206和IL-10]产生的抗炎环境能促进组织修复^[30]。若M1型和M2型巨噬细胞比例平衡被打破,可能会引起长期低程度的炎症反应。因此, M1和M2表型转换可能是哮喘的一种新的治疗途径。Dong等^[31]研究发现, MSCs-EXO通过抑制肿瘤坏死因子受体相关因子1(tumor necrosis factor receptor-

associated factor 1, TRAF1)表达调节 NF- κ B 和 PI3K/Akt 信号通路,促进巨噬细胞 M2 极化,从而抑制炎症反应,促进肺损伤修复,减轻哮喘后的气道重构。

4.2 增加 Tregs 的比例及功能参与免疫调节
Tregs 是有效的免疫调节剂,其异常增殖和功能缺陷在哮喘的发生、发展中起着重要的作用。在一项研究中,评估了骨髓间充质干细胞外泌体(bone marrow mesenchymal stem cells exosomes, BMSC-EXO)对哮喘患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)的免疫调节作用,得到的数据表明, BMSC-EXO 上调了 PBMC 的 IL-10 和 TGF- β 1, 从而促进了 Tregs 的增殖和免疫抑制能力,对哮喘小鼠模型产生免疫调节作用^[24]。Mun 等^[32]研究发现,鼻内给药脂肪间充质干细胞外泌体(adipose tissue-derived stromal cells exosomes, ADSC-EXO)通过诱导哮喘小鼠的 Tregs 扩增显著减少过敏性气道炎症并改善 AHR。因此, ADSC-EXO 可以作为哮喘的调节剂。由此可见, MSCs-EXO 可通过多种途径,增加 Tregs 的比例,从而参加免疫反应,减轻哮喘小鼠的气道炎症反应,延缓气道重塑。

4.3 转移线粒体调节巨噬细胞氧化磷酸化 研究表明, MSCs-EXO 除了转运生物活性物质外,还具有转运线粒体的作用^[33-35]。BM-MSCs 将含有线粒体的 EXO 转移至外周 T 细胞,并调节哮喘中的 T 细胞免疫应答^[35]。含有线粒体的 MSCs-EXO 能促进 M2 型巨噬细胞的极化和氧化磷酸化^[34],从而增强其生物能量,表明 EXO 在细胞间通讯中发挥新的作用,包括 EXO 转运线粒体和对靶细胞的生物能量学调节。

4.4 内源性 miRNA 可减轻气道重塑 miRNA 是 EXO 携带的一类重要分子,与哮喘的病理进展密切相关^[36]。且 EXO 中的 miRNA 含量高于其亲代细胞。它们主要通过靶基因 3'端非翻译区不完全配对,在转录后水平抑制靶基因的翻译过程,从而来调控炎症反应和信号通路。最近有研究表明, BMSC-EXO 来源的 miR188 可以通过 JARID2/Wnt/ β -catenin 轴减弱哮喘小鼠模型中支气管平滑肌细胞的增殖和肺损伤。另一项研究显示, BMSC-EXO 来源的 miR-221-3p 可以通过抑制 FGF2 介导的 ERK1/2 信号通路,从而减弱了 OVA 诱导哮喘小鼠气道平滑肌细胞的增殖、迁移和细胞外基质沉积,减轻哮喘进展^[37]。此外, EXO 可以显著降低支气管平滑肌细胞体外的异常增殖和迁移^[38]。Feng 等^[39]研究了 ADSC-EXO 来源 miR-301a-3p 在哮喘小鼠模型中的治疗潜力。他们报道 EXO 被气道平滑肌细胞

有效内化,其分泌 miR301a-3p 通过靶向 STAT3 显著下调炎症因子、血小板衍生生长因子-BB(PDGF-BB),刺激细胞增殖和迁移,增加细胞凋亡,改善气道重塑。

哮喘气道损伤的治疗一直是肺脏再生医学的热点和难点问题,传统的治疗方法和 MSCs 细胞疗法都存在一定的缺陷。现有的研究表明, MSCs-EXO 具有抑制炎症反应、参与免疫调控、改善气道上皮重塑、延缓哮喘病情进展等作用,可能是比 MSCs 细胞疗法更为安全和经济有效的方式。但是到目前为止,由于对所涉及的分子机制了解有限,并且还没有大型的、随机的、安慰剂对照的临床试验来评估 MSCs-EXO 对哮喘的影响。作为一种无细胞替代治疗药物,对 MSCs-EXO 的研究尚处于起步阶段,如下问题需要解决:(1)哪一种 MSCs 是制备 EXO 的最佳来源。(2)全身(静脉、腹腔)或局部(气管内、胸膜内、鼻内)哪种给药途径能够达到最佳治疗效果。(3)在给药频次上,单次给药还是多次给药,哪种更好。(4)哪些成分在 MSCs-EXO 的生物学效应中起关键作用。(5)提取 MSCs-EXO 的金标准动物模型等。因此,未来仍需要开展大量临床研究,对 MSCs-EXO 在哮喘治疗中的效果、机制和安全性进行更深入的探讨。

参考文献:

- [1] PRABHALA P, WRIGHT D B, ROBBE P, et al. Laminin α 4 contributes to airway remodeling and inflammation in asthma[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2019, 317(6): L768-L777.
- [2] BOULET L P. Airway remodeling in asthma: update on mechanisms and therapeutic approaches[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2018, 24(1): 56-62.
- [3] SALTER B, PRAY C, RADFORD K, et al. Regulation of human airway smooth muscle cell migration and relevance to asthma[J]. *Respir Res*, 2017, 18(1): 156.
- [4] NANDA A, WASAN A N. Asthma in adults[J]. *Med Clin North Am*, 2020, 104(1): 95-108.
- [5] HUANG K W, YANG T, XU J Y, et al. Prevalence, risk factors, and management of asthma in China: a national cross-sectional study[J]. *Lancet*, 2019, 394: 407-418.
- [6] HASS R, KASPER C, BOHM S, et al. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): a comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC[J]. *Cell Commun Signal*, 2011, 9: 12.
- [7] VISWANATHAN S, SHI Y, GALIPEAU J, et al. Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT[®]) Mesenchymal Stromal Cell committee position statement on nomenclature[J]. *Cytotherapy*, 2019, 21(10): 1019-1024.
- [8] KARABEY B, DAGLIOGLU S T, AZBAR N, et al. Bacterial and archeal dynamics of a lab-scale HYBRID gas fermentation bioreactor fed with CO₂ and H₂[J]. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst*

- Environ Eng, 2019, 54(13):1348–1355.
- [9] BUHRING H J, BATTULA V L, TREML S, et al. Novel markers for the prospective isolation of human MSC[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1106:262–271.
- [10] 颢孙永勋, 张炜, 杜雨末, 等. 间充质干细胞对去除 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞哮喘小鼠气道炎症的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(05):742–747.
- [11] LEE H J, KANG K S, KANG S Y, et al. Immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells derived from umbilical cord blood[J]. *J Vet Sci*, 2016, 17(3):289–297.
- [12] KNIGHT D A, ROSSI F M, HACKETT T L. Mesenchymal stem cells for repair of the airway epithelium in asthma[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2010, 4(6):747–758.
- [13] LI Y, LI H, CAO Y, et al. Placenta derived mesenchymal stem cells improve airway hyperresponsiveness and inflammation in asthmatic rats by modulating the Th17/Treg balance[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6):8137–8145.
- [14] LI Y, QU T, TIAN L, et al. Human placenta mesenchymal stem cells suppress airway inflammation in asthmatic rats by modulating Notch signaling[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4):5336–5343.
- [15] LEVY O, KUAIR, SIREM E M J, et al. Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(30):eaba6884.
- [16] HOUGH K P, DESHANE J S. Exosomes in allergic airway diseases[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2019, 19(5):26.
- [17] ZHANG S, CHUAH S J, LAI R C, et al. MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity[J]. *Biomaterials*, 2018, 156:16–27.
- [18] LIAN Q, ZHANG Y, ZHANG J, et al. Functional mesenchymal stem cells derived from human induced pluripotent stem cells attenuate limb ischemia in mice[J]. *Circulation*, 2010, 121(9):1113–1123.
- [19] GAO W X, SUN Y Q, SHI J, et al. Effects of mesenchymal stem cells from human induced pluripotent stem cells on differentiation, maturation, and function of dendritic cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):48.
- [20] MENDT M, KAMERKAR S, SUGIMOTO H, et al. Generation and testing of clinical-grade exosomes for pancreatic cancer[J]. *JCI Insight*, 2018, 3(8):e99263.
- [21] KORDELAS L, REBMANN V, LUDWIG A K, et al. MSC-derived exosomes: a novel tool to treat therapy-refractory graft-versus-host disease[J]. *Leukemia*, 2014, 28(4):970–973.
- [22] NASSAR W, EL-ANSARY M, SABRY D, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles can safely ameliorate the progression of chronic kidney diseases[J]. *Biomater Res*, 2016, 20:21.
- [23] DE CASTRO L L, XISTO D G, KITOKO J Z, et al. Human adipose tissue mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles act differentially on lung mechanics and inflammation in experimental allergic asthma[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):151.
- [24] DU Y M, ZHUANSUN Y X, CHEN R, et al. Mesenchymal stem cell exosomes promote immunosuppression of regulatory T cells in asthma[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 363(1):114–120.
- [25] FANG S B, ZHANG H Y, WANG C, et al. Small extracellular vesicles derived from human mesenchymal stromal cells prevent group 2 innate lymphoid cell-dominant allergic airway inflammation through delivery of miR-146a-5p[J]. *J Extracell Vesicles*, 2020, 9(1):1723260.
- [26] REN J, LIU Y, YAO Y, et al. Intranasal delivery of MSC-derived exosomes attenuates allergic asthma via expanding IL-10 producing lung interstitial macrophages in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 91:107288.
- [27] NIKONOVA A, KHAITOV M, JACKSON D J, et al. M1-like macrophages are potent producers of anti-viral interferons and M1-associated marker-positive lung macrophages are decreased during rhinovirus-induced asthma exacerbations[J]. *EBioMedicine*, 2020, 54:102734.
- [28] GOLEVA E, HAUKE P J, HALL C F, et al. Corticosteroid-resistant asthma is associated with classical antimicrobial activation of airway macrophages[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 122(3):550–559.
- [29] HANSBRO P M, KIM R Y, STARKEY M R, et al. Mechanisms and treatments for severe, steroid-resistant allergic airway disease and asthma[J]. *Immunol Rev*, 2017, 278(1):41–62.
- [30] SHAPOURI-MOGHADDAM A, MOHAMMADIAN S, VAZINI H, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9):6425–6440.
- [31] DONG B, WANG C, ZHANG J, et al. Exosomes from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuate the inflammation of severe steroid-resistant asthma by reshaping macrophage polarization[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1):204.
- [32] MUN S J, KANG S A, PARK H K, et al. Intranasally administered extracellular vesicles from adipose stem cells have immunomodulatory effects in a mouse model of asthma[J]. *Stem Cells Int*, 2021, 2021:6686625.
- [33] PHINNEY D G, DI GIUSEPPE M, NJAH J, et al. Mesenchymal stem cells use extracellular vesicles to outsource mitophagy and shuttle microRNAs[J]. *Nat Commun*, 2015, 6:8472.
- [34] MORRISON T J, JACKSON M V, CUNNINGHAM E K, et al. Mesenchymal stromal cells modulate macrophages in clinically relevant lung injury models by extracellular vesicle mitochondrial transfer[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 196(10):1275–1286.
- [35] HOUGH K P, TREVOR J L, STRENKOWSKI J G, et al. Exosomal transfer of mitochondria from airway myeloid-derived regulatory cells to T cells[J]. *Redox Biol*, 2018, 18:54–64.
- [36] LIU W, LIN H, NIE W, et al. Exosomal miR-221-3p derived from bone marrow mesenchymal stem cells alleviates asthma progression by targeting FGF2 and inhibiting the ERK1/2 signaling pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022:5910874.
- [37] VANDEN BERGE M, TASENA H. Role of microRNAs and exosomes in asthma[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2019, 25(1):87–93.
- [38] SHAN L, LIU S, ZHANG Q, et al. Human bone marrow-mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNA-188 reduces bronchial smooth muscle cell proliferation in asthma through suppressing the JARID2/Wnt/ β -catenin axis[J]. *Cell Cycle*, 2022, 21(4):352–367.
- [39] FENG C Y, BAI S Y, LI M L, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-301a-3p regulates airway smooth muscle cells during asthma by targeting STAT3[J]. *J Asthma Allergy*, 2022, 15:99–110.